

**ДНКАЗНАЯ И БАПНА-АМИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОК  
КРОВИ ДОНОРОВ, БОЛЬНЫХ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ  
И ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

*Железняк Н.В., Дмитриченко Т.И., Стычевская Е.В.,  
Беренштейн Т.Ф., Жерулик С.В.  
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов  
медицинский университет»*

**Введение** Значительное место в структуре как острой, так и хронической вирусной патологии занимают вирусные гепатиты, а также герпетические поражения. Возбудители этих болезней являются причиной не только острых, но и тяжелых хронических расстройств. Во многих случаях они персистируют

пожизненно, приводя к поражению большинства органов и систем с глубоким расстройством их функции.

Начиная с самых ранних этапов инфекционного процесса, в качестве инструмента воздействия на макроорганизм вирусы используют макромолекулы, обладающие многообразной биологической активностью. Так, важную роль в развитии патологических процессов вирусной природы играют белки – гликопротеиновые рецепторы капсида и суперкапсида, структурные белки, ферменты метаболизма нуклеиновых кислот, протеазы, нейраминидазы. Кроме того, в результате активной репликации вируса в клетках появляется избыточное количество вирусных нуклеиновых кислот (ДНК или РНК).

В свою очередь, в патогенезе вирусных инфекций самое активное участие принимают ферментативные системы клеток и тканей. С одной стороны, они могут способствовать элиминации возбудителей (система нуклеаз), с другой – могут стимулировать прогрессирование и распространение инфекционного процесса. В частности, известна протеолитическая активация вирусных частиц под действием протеаз организма хозяина [1].

Отсюда целью нашего исследования стала оценка нуклеазной и протеолитической (амидазной) активности сывороток крови больных вирусными гепатитами и герпетической инфекцией с последующим их сопоставлением с активностью сывороток крови практически здоровых лиц (доноров крови).

**Материалы и методы.** В работе проводили определение сывороточной ДНКазной и БАПНА-амидазной (аналога протеолитической) активности у 24 практически здоровых лиц (контрольная группа доноров крови), 19 больных инфекционным мононуклеозом (герпетической инфекцией, вызванной вирусом герпеса 4 типа), 7 больных ветряной оспой и 4 больных опоясывающим лишаем (герпетической инфекцией, вызванной вирусом герпеса 3 типа), 14 больных вирусными гепатитами В и С.

Диагноз заболеваний устанавливался на базе Витебской областной инфекционной больницы. Забор сыворотки крови доноров проводился на Витебской областной станции переливания крови.

Для определения БАПНА-амидазной абзимной активности к 0,2 мл субстрата бензил-DL-аргинин- $\alpha$ -нитроанилида (БАПНА) в концентрации 0,5 мг/мл на 0,05M трис-HCl буфере pH 8,3, содержащем 0,025% азид натрия, добавляли 0,05 мл сывороток больных или здоровых лиц, разведенных 1/10 изотоническим раствором NaCl. Субстрат предварительно растворяли в минимальном объеме диметилсульфоксида.

Инкубировали в течение 20 ч при температуре 37°C. Реакцию выполняли в планшетах для иммуноферментного анализа (ИФА). Опытные и контрольные пробы дублировали. Регистрацию результатов проводили на фотометре Ф300 производства РУП «Витязь» (Витебск), методика №20, двухволновое измерение на 405 и 570 нм. Полученные данные выражали в условных единицах (УЕ), эквивалентных приросту оптической плотности опытной пробы в сравнении с холостой пробой.

Измерения оптической плотности проводили сразу после добавления сыворотки и после окончания инкубации через 20 ч, определяя прирост оптической плотности реакционной смеси. Для оценки суммарной протеолитической активности в 1 мл сыворотки полученные результаты умножали на разведение сыворотки.

С учетом возможности повышения абзимной активности в присутствии катионов металлов в дальнейших экспериментах в реакционный буфер добавляли хлорид магния, кальция, цинка и сульфат меди в концентрации 0,00001-0,001М.

При оценке ДНКазной активности сывороток больных и здоровых лиц к 0,2 мл раствора ДНК (~300 мкг/мл), содержащего 0,04% азид Na, добавляли 0,1 мл сыворотки, разведенной 1/10, и 0,1 мл трис-HCl буфера pH 8,3 с 0,01М MgCl<sub>2</sub>. Контроль – буферный раствор

Постановку реакции осуществляли в центрифужных пробирках. После инкубации в течение 20 часов при 37°C на поверхность проб насаивали 20 мкл 0,75% раствора риванола и встряхивали до получения сгустка – комплекса нераспавшейся ДНК с хромогеном риванолом

Реакцию комплексообразования оценивали по 6-балльной шкале, результаты выражали в условных единицах активности (Ед). Отсутствие активности (0 Ед) – крупный, компактный сгусток «риванол-ДНК»; 1 Ед – слабая активность, рыхлый сгусток; 2 Ед – слабая активность, рыхлый сгусток, хлопья, нити; 3 Ед – средняя активность, хлопья, нити; 4 Ед – высокая активность, распавшийся сгусток, хлопья, нити ДНК; 5 Ед – максимальная активность, полный распад ДНК с образованием гомогенной взвеси.

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере при помощи пакетов прикладных статистических программ. Для сравнения данных между группами использовали метод множественных сравнений по Бонферрони и метод Краскелла-Уоллиса для множественного сравнения медиан. При сравнении двух выборок использовали критерии Стьюдента и Вилкоксона-Манна-Уитни.

**Результаты и обсуждение.** При оценке сывороточной ферментативной амидазной и нуклеазной активности были получены следующие результаты

Амидазная активность сыворотки доноров (разведение 1/10,  $M \pm m$ ) составила  $0,052 \pm 0,006$  УЕ ( $n=24$ ); больных инфекционным мононуклеозом –  $0,062 \pm 0,007$  УЕ ( $n=16$ ), больных ветряной оспой –  $0,046 \pm 0,008$  УЕ ( $n=6$ ). В сравнении с контрольной группой доноров достоверно сниженная ( $p=0,07$ ) протеолитическая активность сыворотки была обнаружена у больных вирусными гепатитами В и С –  $0,036 \pm 0,008$  УЕ ( $n=14$ ).

При включении в реакционную смесь катионов металлов с целью дополнительной активации протеолитической активности были получены следующие данные.

Амидазная активность сыворотки доноров (разведение 1/10) составила  $0,099 \pm 0,008$  УЕ ( $n=24$ ); больных ветряной оспой –  $0,107 \pm 0,01$  УЕ ( $n=6$ ). В сравнении с контрольной группой доноров достоверно более низкая протеолитическая активность сыворотки была обнаружена у больных вирусными гепатитами В и С –  $0,042 \pm 0,011$  УЕ ( $n=14$ ,  $p=0,001$ ) и больных инфекционным мононуклеозом –  $0,053 \pm 0,017$  УЕ ( $n=15$ ,  $p=0,01$ ).

Mg-зависимая ДНКазная активность сыворотки доноров (разведение 1/50,  $M \pm m$ ) составила  $2,4 \pm 0,35$  Ед ( $n=24$ ); больных ветряной оспой –  $1,3 \pm 0,35$  Ед ( $n=6$ ), больных вирусными гепатитами В и С –  $1,87 \pm 0,4$  Ед ( $n=14$ ). В сравнении с контрольной группой доноров достоверно сниженная нуклеазная активность сыворотки была обнаружена у больных инфекционным мононуклеозом –  $1,38 \pm 0,02$  Ед ( $n=16$ ,  $p=0,05$ ).

**Выводы.** При различных вирусных инфекциях происходит снижение общей сывороточной ферментативной активности в сравнении со здоровыми лицами – протеолитической при вирусных гепатитах. ДНКазной – при инфекционном мононуклеозе.

Литература:

- 1 Букринская А.Г. Вирусология. – М.: Мед., 1986. – С. 158-159